

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSGRADO

**Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria del extracto
hidroalcohólico de las hojas de *Ricinus communis* L. “higuerilla”**

TESIS

**Para obtener el Grado Académico de Magister en Recursos
Vegetales y Terapéuticos**

AUTOR

Juan Roberto Pérez León Camborda

Lima – Perú

2013



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSGRADO



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN RECURSOS VEGETALES Y
TERAPEÚTICOS**

Siendo las 9.30 horas del 25 de enero 2013 se reunieron en el Auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador y Calificador, presidido por el Dr. Carlos Alejandro Bell Cortez e integrado por los siguientes miembros: Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera (asesor), Dr. Mario Carhuapoma Yance, Mg. Luis Miguel Visitación Félix Véliz y el Mg. Hugo Gilberto Villanueva Vilchez; para la sustentación oral y pública de la Tesis intitulada: ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Ricinus communis* ("HIGUERILLA"), del Bachiller en Farmacia y Bioquímica JUAN ROBERTO PÉREZ LEÓN CAMBORDA, egresado de la Maestría en Recursos Vegetales y Terapéuticos.

Acto seguido se procedió a la exposición de la Tesis, con el fin de optar al Grado Académico de Magister en Recursos Vegetales y Terapéuticos. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación el Jurado Examinador y Calificador procedió a la votación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

18 (Dieciocho)

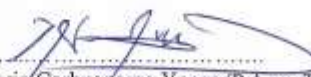
Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Bachiller en Farmacia y Bioquímica, JUAN ROBERTO PÉREZ LEÓN CAMBORDA, el Grado Académico de Magister en Recursos Vegetales y Terapéuticos.

Siendo las 10:50 hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las 10:58 hrs. del 25 de enero 2013.


Dr. Carlos Alejandro Bell Cortez (P.P., T.C.)
Presidente


Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera (P.P., T.C.)
Miembro-asesor


Dr. Mario Carhuapoma Yance (P.Asoc., T.C.)
Miembro


Mg. Luis Miguel Visitación Félix Véliz (P.P., T.P.)
Miembro


Mg. Hugo Gilberto Villanueva Vilchez (P.P., T.P.)
Miembro

Observaciones:

DEDICATORIA

Dedico este proyecto a Dios por ser quien ha estado a mi lado en todo momento dándome las fuerzas necesarias para continuar luchando día tras día y seguir adelante con fe y optimismo.

A mi mayor riqueza mi esposa Nina, mis hijos Lucila y Roberto que son la razón principal de mi esfuerzo y dedicación.

En forma muy especial A mi madre Juana y mi padre Roberto (Q.D.D.G.) por su gran amor y constancia en lograr sus metas.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por llenar mi vida de dicha y bendiciones.

A mis hermanas de todo corazón por su amor, cariño y comprensión.

Al Asesor de tesis, Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera por su apoyo y orientación.

Al Presidente y Miembros del Jurado por sus valiosos aportes para la mejor elaboración de esta tesis.

Presidente: Dr. Carlos Alejandro Bell Cortez

Miembros: Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera

Dr. Mario Carhuapoma Yance

Mg. Luis Miguel Visitación Félix Veliz

Mg. Hugo Gilberto Villanueva Vílchez

A la Dra. Juana Elvira Chávez Flores por su amistad e incondicional apoyo brindado.

INDICE GENERAL

RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCION	01
II.GENERALIDADES	02
2.1.0. Estudio botánico	
2.2.0. Estudio químico	
2.3.0. Estudio farmacológico	
III.MATERIAL Y MÉTODOS	08
3.1.0. Clasificación botánica	
3.2.0. Cortes histológicos de <i>Ricinus communis</i> L. “higuerilla”	
3.3.0. Preparación del extracto etanólico para el estudio fitoquímico, farmacológico y toxicológico	
3.4.0. Ensayos preliminares	
3.5.0. Análisis cromatográficos	
3.6.0. Aislamiento, purificación e identificación	
3.7.0. Análisis espectrofotométrico	
3.8.0. Del estudio farmacológico	
IV. RESULTADOS	14
4.1.0. Cortes histológicos de <i>Ricinus communis</i> L. “higuerilla”	
4.2.0. Del estudio fitoquímico	
4.3.0. De la actividad antiinflamatoria	
V. DISCUSION	36
VI. CONCLUSIONES	38
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	39
VIII. ANEXOS	42

RESUMEN

El objetivo fue determinar el efecto antiinflamatorio de *Ricinus communis* L. “higuerilla” en ratas con inducción de inflamación aguda. Se realizó el estudio fitoquímico y la determinación de la actividad antiinflamatoria de *Ricinus communis* L. “higuerilla”. La especie fue ubicada y recolectada en el mes de febrero de 2008, en la comunidad de Chosica, ubicada a 800 msnm. Provincia de Lima y departamento de Lima. Las hojas fueron secadas a 38° C en un horno con aire circulante, se molió y maceró con etanol 70°. Mediante una marcha fitoquímica se detectaron compuestos fenólicos, taninos, alcaloides, esteroides, saponinas y azúcares reductores. Para el análisis cromatográfico en capa fina a escala preparativa, se utilizó el sistema de solventes: EtOH-MeOH-H₂O (80:3:3). la elucidación estructural se realizó por espectroscopia UV-visible e IR: se determinaron dos fracciones probables; F1:3'-metoxiflavona y F2:7-metoxiflavona. Para evaluar el estado agudo se usó el modelo experimental de Winter (edema subplantar) con albúmina, administrado a nivel de la aponeurosis plantar derecha de la rata. Se utilizaron 40 ratas cepa Holtzman de 200+/- 20 g distribuidas al azar en grupos de 8 cada uno; considerando un control con agua destilada 5 mL/kg, grupos con agente inflamatorio más extracto en 2 dosis, así mismo, con dexametasona e ibuprofeno; siendo 40 ratas para evaluación frente a la albumina donde se consideró mL de volumen del miembro inferior, porcentaje de eficacia antiinflamatoria. Los resultados mostraron un 15% de reducción de la inflamación aguda ($p < 0,01$). En conclusión. En las condiciones experimentales se demostró que el extracto hidroalcohólico de *Ricinus communis* L. “higuerilla”. en ratas presenta un efecto antiinflamatorio, dicha actividad probablemente se deba a la presencia de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas. Al evaluar la toxicidad aguda a dosis límite del extracto hidroalcohólico de hojas en ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/c, se ha determinado que no produce mortalidad a la dosis máxima de 2 000 mg/kg. y por lo que se califica como no clasificado (no toxico).

Palabras clave: *Ricinus communis* L. “higuerilla”. antiinflamatorio, toxicidad aguda, flavonoides.

ABSTRACT

The aim was to determine the anti-inflammatory effect of *Ricinus communis* L. "higuerilla". In rats which were induced acute and chronic inflammation. It was carried out the photochemical study determination of the anti-inflammatory activity of *Ricinus communis* L. "higuerilla". The species was located y gathered in the month of February of 2008, community of Chosica, at 800 msnm. County of Lima, department of Lima. The leaves was dried at 38 ° C in an oven with circulating air, ground and macerated with ethanol (70°) .By means of a phytochemical march phenolic compound, tannins, alkaloids, steroids, saponines and reductor sugars were detected. For the chromatographic analysis in analytic fine layer, in preparatory scale. The system of solvents was used: EtO-MeOH-H₂O (80:3:3), the structural elucidation was carried out for UV-visible spectroscopy and RI: se two probable fractions were determined; F1: 3'-metoxiflavona y F2:7-metoxiflavona. It was used Winter experimental model to evaluate the acute state (subplantar edema) with albumin given at the level of right plantar fascia of the rat. It was used 40Holtman stump rats of 200 +/- 20 g randomly divided in groups of eight each, one whereas a control with distilled water 5 mL/kg, groups with anti-inflammatory agent and extract in 2 doses also with dexamethasone and ibuprofen, being 40rats for evaluation against albumin where was considered mL of lower limb volume, percentage of effectiveness anti-inflammatory. The results showed a reduction of 15% acute inflammation (p <0.01). Conclusion. Underneath the experimental conditions it has shown that hydro alcoholic extract of *Ricinus communis* L. "higuerilla". in rats has an anti-inflammatory effect, This activity is probably due to the flavonoid presence in the hydro alcoholic extract .When evaluating the acute toxicity to dose limit of the hydro alcoholic extract of leaves in *Mus musculus* albinic mice species stump Balb/c, It has been determined that it doesn't produce mortality to the maximum dose of 2 000 mg/kg, for what is qualified as "Not classified" (nontoxic).

Keywords: *Ricinus communis* L. "higuerilla". Anti-inflammatory, acute toxicity, flavonoids.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú es rico en recursos naturales, que han demostrado en el tiempo la gran efectividad que tienen en el uso popular, el empleo de estas plantas medicinales¹, es en muchos de los casos empíricos y llevado a cabo por curanderos que han adquirido estos conocimientos de generación en generación y han llegado a nuestro tiempo, siendo injustamente relegados por la medicina moderna.

Es de suma importancia de los que trabajamos en la investigación de productos vegetales demostrar la eficacia con los métodos científicos ya validados² para demostrar la eficacia de su empleo y encontrar su uso adecuado.

Son muchos los trabajos que se hacen sobre las plantas que tienen valor terapéutico demostrado en el uso popular y que inclusive tienen mayor eficacia que los compuestos sintetizados y sin reacciones adversas por eso la importancia que tienen el estudio de estas plantas para demostrar científicamente su valor de cura y difundir su uso^{2,3}.

Existiendo plantas medicinales que bien podrían ser utilizadas como productos de uso alternativo o complementario o según el grado de patología^{2, 3, 4,5}. En los últimos años se ha revalorado el uso de las plantas medicinales con fines terapéuticos, para mejorar el problema de la salud se quiere contribuir con el presente trabajo *ESTUDIO FITOQUIMICO Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE Ricinus communis L. “higuerilla”* precisamente en afianzar los conocimientos, validar el uso popular y proponer un tratamiento alternativo de la inflamación^{1, 2, 3,4}, ya que su uso tradicional sugiere una actividad antiinflamatoria.

Con el propósito de resaltar y valorar el uso de las plantas medicinales se ha desarrollado el presente trabajo de investigación teniendo como objetivo general:

1) Comprobar la eficiencia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de *Ricinus communis* L. “higuerilla” con estándares farmacológicos¹⁰ clásicos: Ibuprofeno y dexametasona *communis* y como objetivos específicos:

1) Determinar el estudio fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de *Ricinus communis* L. “higuerilla”.⁵ 2) Identificar los metabolitos secundarios principales²⁰ presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Ricinus* L. “higuerilla”, 3) Evaluar la seguridad aguda en ratones al administrar por vía oral el extracto hidroalcohólico de *Ricinus communis* L. “higuerilla”.

II. GENERALIDADES

2.1.0. Estudio botánico

2.1.1. Ubicación sistemática de la especie

La muestra fue clasificada por la Mg. María Isabel La Torre A. en el Museo de Historia Natural, según el sistema de clasificación Cronquist.²⁶ (1988) Anexo N°1

DIVISIÓN:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE:	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE:	ROSIDAE
ORDEN:	EUPHORBIALES
FAMILIA:	EUPHORBIACEAE
GENERO:	<i>Ricinus</i>
ESPECIE:	<i>Ricinus communis</i> L.
Nombre vulgar:	“higuerilla”

2.1.2. Familia Euphorbiaceae

Euphorbiaceae es una familia con 300 géneros y alrededor de 7.500 especies, la mayoría de ellas matas y hierbas aunque también, en especial en los trópicos, árboles y arbustos; monoicas o dioicas, típicamente con látex. Algunas son suculentas que se asemejan a los cactus⁶.

Esta familia se da principalmente en los trópicos, con la mayoría de las ⁹ especies distribuida por la región indo-malaya y la América tropical. Hay una amplia variedad en el África tropical, aunque no tan abundante ni variada como en las otras dos regiones. Sin embargo, el género Euphorbia también tiene muchas especies en áreas no tropicales, como la Cuenca mediterránea, el Oriente Medio, Sudáfrica y el sureste de Estados Unidos.

2.1.3. Descripción botánica⁶

Características

Hojas simples, generalmente alternas a menudo estipuladas. Flores pequeñas, con tendencia a la reducción en el número de piezas, unisexuales, actinomorfas, las más primitivas con cáliz y corola, el resto, monoclamídeas o aclamídeas; estambres en número variable, muchas veces reducido a 1, a veces

estambres ramificados con un número variable de anteras (hasta 9); gineceo supero, pluricarpelar en las especies primitivas, tricarpelar, e incluso, monocarpelar en las más modernas; los estilos pueden ser ramificados. Inflorescencias complejas de tipo cimoso. Es característico de Euphorbia y géneros afines el ciatio. A su vez los ciatos forman inflorescencias compuestas umbeliformes. Frutos normalmente capsulares, dorsicidas o loculicidas, cuyos carpelos se separan en la madurez, tricocos, la reticulación de la testa de la semilla es un carácter sistemático.

2.1.4. Observaciones para el reconocimiento de la especie:

El ricino es un arbusto de tallo grueso y leñoso, hueco que, al igual que los peciolos, nervios e incluso las propias hojas en algunas variedades, puede tomar un color púrpura oscuro y suele estar cubierto de un polvillo blanco, semejante a la cera. Las hojas son muy grandes, de nerviación palmeada y hendidas de 5 a 9 lóbulos, de bordes irregularmente dentados; las hojas son alternas, con peciolo muy largo, unido por su parte inferior. Las flores están dispuestas en grandes inflorescencias, erguidas, que rematan los tallos; en la parte inferior de las mismas están las flores masculinas, con un cáliz, con cinco piezas lanceoladas y múltiples estambres soldados, con forma de columna, ramificada en forma de coliflor. Las flores femeninas se encuentran en la parte superior de la panícula, con ovario, formado por tres hojas carpelares y rematado por tres ramitas bifurcadas, con papilas destinadas a captar el polen. Florece casi todo el año. El fruto es globuloso, trilobulado, casi siempre cubierto por abundantes púas, que le dan un aspecto erizado; tiene tres cavidades, cada una con una semilla, grande y jaspeada, de superficie lisa y brillante, rematada por una excrecencia y que contiene una toxina llamada ricina. Al secarse los frutos, la cubierta espinosa se tensa progresivamente produciendo finalmente un efecto de resorte, que lanza la semilla a distancias superiores a los diez metros, siendo ésta la forma de esta planta para extenderse.

DISTRIBUCIÓN: Requiere un clima cálido sin heladas, está disperso, por casi todas las regiones cálidas del globo, habiéndose naturalizado, por ser una planta cultivada desde la antigüedad; parece ser originario del África (Abisinia).

2.2.0. Estudio químico

2.2.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se refieren a un grupo compuestos químicos que poseen un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, frecuentemente como glucósidos. Relativamente polares, tienden a ser solubles en agua, pudiendo ser detectados por el color verde, púrpura o azul o negro que producen cuando se agrega una solución acuosa al 1% de cloruro férrico. Dada la naturaleza aromática de estos compuestos fenólicos, muestra intensa absorción en la región UV del espectro, siendo este método espectral especialmente importante para su identificación y análisis cuantitativo.⁷

Los flavonoides que presentan en extracto hidroalcohólico son: flavonas, flavonoles, isoflavonas, fenilpropanoides, chalconas, auronas, etc.⁸

2.2.2. Estructura química de flavonoides

Son moléculas de 15 átomos de carbono que se caracterizan por tener oxígeno en una estructura de 2-fenil cromona tipo $C_6-C_3-C_6$, es decir, tienen dos anillos aromáticos unidos por tres átomos de carbono, los cuales pueden o no formar un tercer anillo¹⁰.

Por convenio se denomina a estos anillos A, B y C. Cada carbono se nombra con números ordinarios para los anillos A, C y números primos para el anillo B

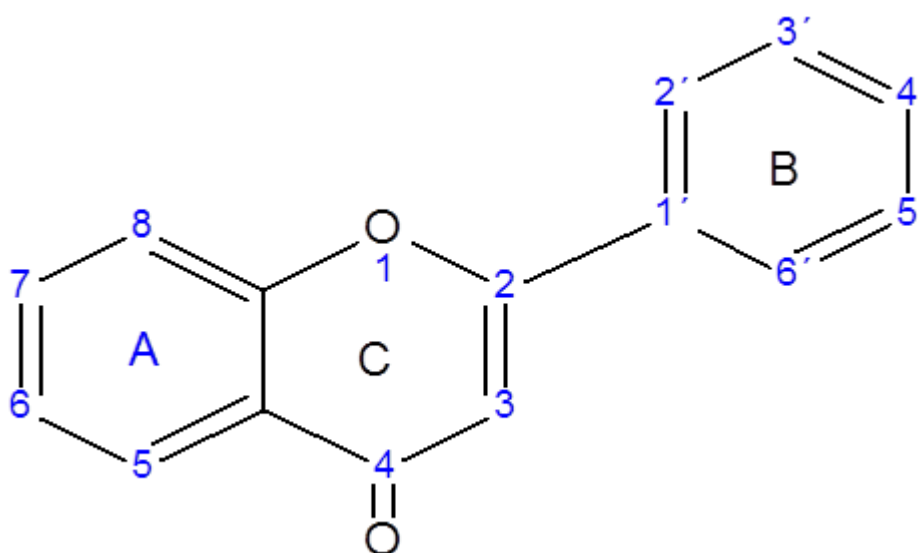


Figura N°1. Estructura básica de flavonoides

2.3.0. Estudio farmacológico

2.3.1. Estudio de la Inflamación¹⁵

La inflamación puede ser originada por factores endógenos (necrosis tisular o rotura ósea) o factores exógenos como lesiones por agentes mecánicos (cortes), físicos (quemaduras), químicos (corrosivos), biológicos (microorganismos) e inmunológicos (reacciones de hipersensibilidad). Aunque en algunos casos, como la hipersensibilidad, la inflamación puede tener consecuencias nocivas, por lo general es una respuesta protectora que trata de restaurar los tejidos lesionados. Tras un proceso inflamatorio puede ocurrir lo siguiente:

1. Resolución con retorno a una estructura y función normal,
2. Supuración con formación de absceso,
3. Hinchazón con regeneración de tejido especializado o fibroso formando una cicatriz.
4. Persistencia del agente causante, haciéndose el proceso crónico.

Para el tratamiento de la inflamación se cuenta con diferentes sustancias entre las cuales se encuentran plantas con propiedades antiinflamatorias, según el conocimiento tradicional de los pueblos indígenas y comunidades campesinas, el *Ricinus communis* L “Higuerilla” es usado como desinflamante aplicando la planta entera como emplasto sobre la zona inflamada, estos conocimientos o costumbres no se encuentran fundamentados científicamente y lo que se quiere lograr con el presente trabajo es demostrar, fundamentar y afianzar estos conocimientos.

Inflamación aguda^{13, 14}

Los cambios que se producen tras la lesión tisular se deben a tres procesos:

1. Cambios en el flujo y calibre vascular, que hacen que aumente el flujo sanguíneo.

2. Cambios estructurales en los vasos sanguíneos que aumentan la permeabilidad vascular e inducen la formación de exudado inflamatorio.
3. Paso de los leucocitos del espacio vascular al extravascular alcanzando así el foco de las lesiones^{13, 14}.
4. El resultado de todo ello es el acumulo de un fluido rico en proteínas, fibrina y leucocitos. En los primeros 10-15 minutos se produce una hiperemia por dilatación de arteriolas y vénulas y apertura de los vasos de pequeño calibre. Tras esta fase aumenta la viscosidad de la sangre, lo que reduce la velocidad del flujo sanguíneo. Al disminuir la presión hidrostática en los capilares, la presión osmótica del plasma aumenta, y en consecuencia un líquido rico en proteínas sale de los vasos sanguíneos originando el exudado inflamatorio^{13,14}

Mediadores tisulares de la inflamación¹⁵

La activación de los mastocitos, basófilos y plaquetas estimula el metabolismo del ácido araquidónico con la consiguiente síntesis de prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos. La histamina y la serotonina, segregadas por mastocitos, basófilos y plaquetas, producen vasodilatación y aumentan la permeabilidad vascular. El PAF es un complejo lisofosfolípido-acetilado que induce la agregación plaquetaria y la degranulación. Además, aumenta la permeabilidad vascular, induce la adhesión leucocitaria y estimula la síntesis de derivados del ácido araquidónico. Estos derivados incluyen las prostaglandinas y los leucotrienos.

El ácido araquidónico es un ácido graso derivado del ácido linoleico que se encuentra en la membrana celular y bajo estimulación puede ser liberado al exterior de la célula por una fosfolipasa. El óxido nítrico se produce por las células endoteliales, macrófagos y neuronas del cerebro.

Reparación de la inflamación^{14,15}

En la inflamación se produce una destrucción de las células del parénquima y de las del estroma. El tejido lesionado es reparado mediante tejido conectivo que va a producir la fibrosis y la esclerosis. En este proceso intervienen los siguientes componentes:

1. Formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis).
2. Migración y proliferación de fibroblastos.
3. Depósito de matriz extracelular.
4. Maduración y organización del tejido fibroso (remodelación).

El proceso de reparación empieza a las 24 horas tras la lesión. Los fibroblastos y las células del endotelio vascular comienzan a proliferar formando el tejido de granulación en el cual se forman nuevos vasos (angiogénesis).

Actividad farmacológica de los flavonoides:

La actividad antiinflamatoria de muchos extractos obtenidos de plantas medicinales utilizada como antirreumática, antiartrítica y en el tratamiento de inflamaciones intestinales, de garganta y oído parece ligada reiteradamente a la presencia de flavonoides en sus extractos¹³.

2.3.2. Toxicidad aguda e inocuidad; Uno de los primeros estudios farmacológicos a realizar a una sustancia, producto o principio a la que se atribuye un efecto terapéutico, es la toxicidad¹⁶. Toda sustancia o mezcla de sustancias a ser utilizadas en medicina no solo deben poseer efectos terapéuticos sino además deben ser inocuas. Todo producto sintetizado o de origen natural que contengan principios activos, pueden producir efectos no deseados a corto o largo plazo. Por ello en la elaboración de medicamentos resulta esencial seleccionar sustancias que ofrezcan un margen de seguridad adecuado¹⁶.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.0. Clasificación botánica

3.1.1. Taxonomía

Determinada según el sistema de Cronquist (1988)²⁶. Dicha clasificación se realizó en el Museo de Historia Natural de la UNMSM Anexo N° 1

3.2.0. Cortes histológicos de *Ricinus communis* L. “higuerilla”

Se fijaron muestras representativas de raíz, tallo y hoja en FAA (formaldehído, ácido acético glacial y etanol). Se realizaron cortes transversales y longitudinales de los mismos, aclarados en hipoclorito de sodio, teñidos en violeta de cresilo y montados en gelatina glicerada. Microfotografías digitales en canon *Powershot*, a x100 y x400 aumentos.

3.3.0. Preparación del extracto etanólico para el estudio fitoquímico, farmacológico y toxicológico²².

3.3.1. Recolección

Se recolectaron 10 kilos de la especie *Ricinus communis* L. “higuerilla” en el mes de Febrero de 2008, de la comunidad de San Antonio, ubicada a 3 200 m.s.n.m. en el distrito de Chosica provincia Lima y departamento de Lima. La muestra recolectada se envolvió con papel kraft y se embolsó en cajas de cartón con su respectivo rótulo.

3.3.2. Desecación

Las hojas de *Ricinus communis* L. “higuerilla” se desecó en estufa a 40 °C, para no alterar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de la especie en estudio.

3.3.3. Molienda

Se utilizó molino de cuchillas Willey Hill St. Model N° 3, obteniéndose un polvo fino que se conservó en frascos de boca ancha de color ámbar debidamente rotulado.

3.3.0. Preparación del extracto etanólico.¹⁷

Se pesaron 400 g del polvo seco; se añadió 4 litros de etanol de 70° y se maceró por 7 días, con agitación periódica para optimizar la extracción de los metabolitos primarios y secundarios, luego se filtró y se concentró en la estufa a 40°C para obtener al final un extracto seco.

3.4.0. Ensayos preliminares

3.4.1. Prueba de solubilidad

Se usó 11 tubos de ensayo se colocaron 30 mg del extracto seco de hojas de *Ricinus communis* L. “higuerilla” y se le agregó a cada uno 1 mL de solvente⁸ benceno, acetona, butanol, etanol, metanol, agua destilada, hexano, cloroformo, acetato de etilo, éter etílico y éter de petróleo. Se agitó y observó los resultados. Figura N° 10 y tabla N° 2.

3.4.2. Marcha fitoquímica

Se usó para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos en la planta, basado en la aplicación de pruebas de coloración y precipitación^{7,8,23}. El extracto seco 30 mg se solubilizó en metanol y se realizaron ensayos para detectar alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, aminoácidos, carbohidratos, esteroides y saponinas. Figura N° 11 y tabla N° 3.

3.5.0. Análisis cromatográficos:

3.5.1. Cromatografía en capa fina: Se realizó la cromatografía en capa fina^{11, 12}, en cromatofolios de 7 x 2,5 cm impregnadas de silicagel GF₂₅₄, se usó como sistema de solventes: EtOAc – MeOH – H₂O (80:3:3) v/v, en una cuba cromatográfica pequeña.

3.5.2. Cromatografía en escala preparativa: Se usó placas de vidrio de 20 x 20 cm preparadas con el soporte silicagel GF₂₅₄, empleando el sistema de solvente EtOAc – MeOH – H₂O (15:3:2) v/v, en una cuba cromatográfica adecuada.

3.6.0. Aislamiento, purificación e identificación

En la cromatografía en capa fina se observó 4 manchas, luego se realizó la cromatografía en escala preparativa (CEP)¹⁹ se detectó la presencia de 4 fracciones que verificadas a la luz UV de 365 nm, con reveladores y reacciones de color dieron positivas para compuestos fenólicos^{5,20} la F2 y F4.

A estas dos fracciones se realizaron sucesivas cromatografías en escala preparativa para su purificación, se eluyó con EtOAc, MeOH y agua destilada, filtró y llevó a sequedad.

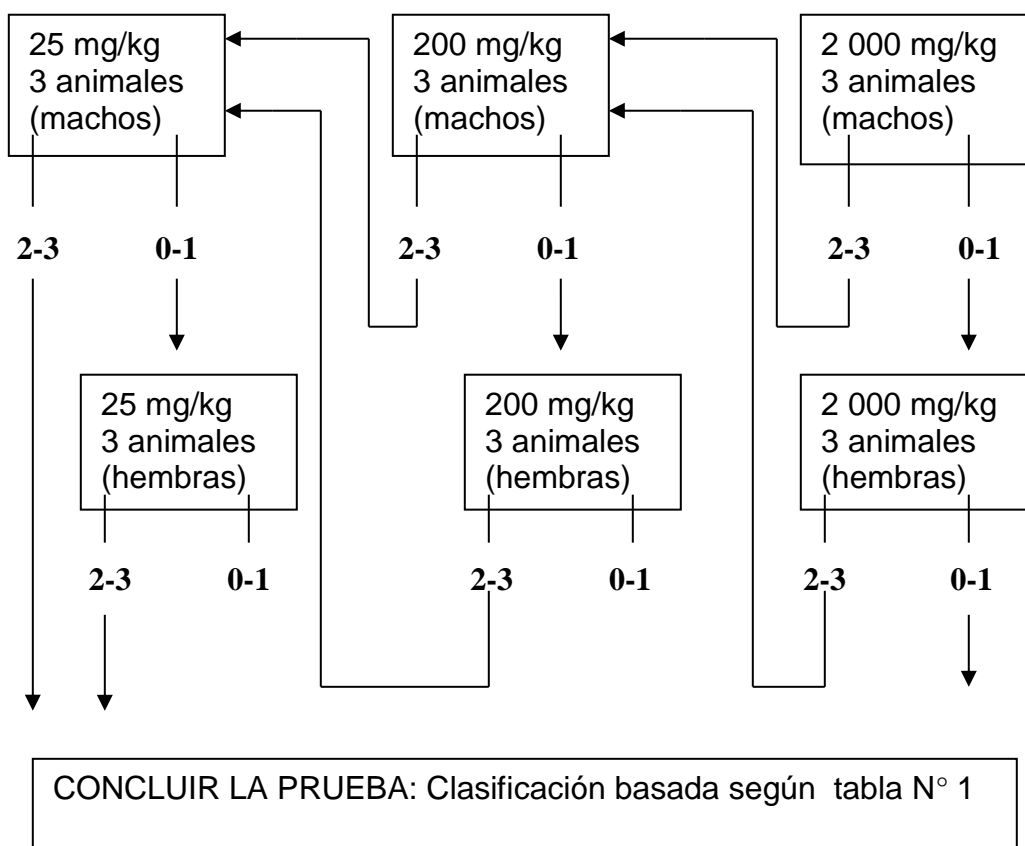
3.7.0. Análisis espectrofotométrico

Después de ser aisladas las dos fracciones provenientes del extracto etanólico de hojas de *Ricinus communis* L. “higuerilla” se analizaron por espectroscopia ultravioleta²¹. Figuras N°:14 y 15 y espectroscopia infrarroja⁷. El espectro UV de las fracciones fue obtenido en el espectrofotómetro modelo Hewlett-Packard 8452A. Diode array y el infrarrojo (IR) se obtuvo en el espectrofotómetro Beck modelo 500. Figura N°16 (F2) y Figura N°17 (F4).

3.8.0. Estudio farmacológico

3.8.1. Determinación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de hojas de *Ricinus communis* L. “higuerilla” en ratones albinos *Mus musculus cepa Balb/c por vía oral* por vía oral²³.

Se formaron dos grupos de tres ratones del mismo sexo a 3 dosis diferentes y se trabajó de acuerdo a la siguiente Figura N°2.



Leyenda: 0, 1, 2,3: Número de animales moribundos o muertos de cada sexo.

Figura N° 2. Modelo de toxicidad aguda a dosis límite 2 000mg/kg en ratones²³.

Tabla N°1: Rango de toxicidad aguda²³.

DOSIS	CLASIFICACIÓN
< 25 mg/kg	Muy tóxica
< 200 mg/kg	Tóxica
< 2 000 mg/kg	Dañina
>2 000 mg/kg	No clasificado

Se observó el comportamiento de los animales durante 14 días.

Se consideró los signos y síntomas observados y se controló los pesos al inicio, a los 7 días de administración y al finalizar el experimento si el caso así lo requería.

Se realizó la necropsia a todos los animales al final del experimento y se evaluó, peso, coloración y tamaño de los diferentes órganos.

Se sacrificó los animales por el método de dislocación cervical, separación del cráneo de la columna espinal, aplicando presión en la base del cráneo y la columna cervical, lográndose la pérdida de sensibilidad al dolor²⁴.

Tabla N° 7 (Anexo 4).

3.8.2. Efecto antiinflamatorio:

Modelo de inflamación aguda: Edema plantar por Albúmina 1%

Se utilizaron 40 ratas cepa Holtzman de ambos sexos, se distribuyó aleatoriamente cada grupo conformado por 8 ratas de 170-220g de peso. Los animales de experimentación se aclimataron por 7 días, se mantuvo en ayunas 12 horas antes de iniciar el experimento dejándolos únicamente con agua ad libitum. Se formaron los siguientes grupos:

- 1^{er}. grupo control: Agua destilada 5 mL/kg
- 2^{do}. Grupo control farmacológico: Ibuprofeno 10 mg/kg
- 3^{er}. Grupo control farmacológico: Dexametasona 4 mg/kg
- 4^{to}. grupo problema: Extracto etanólico *Ricinus communis* L.
"higuerilla" 50 mg/kg
- 5^{to}. grupo problema: Extracto etanólico de *Ricinus communis* L.
"higuerilla" 100 mg/kg

Después de una hora de los tratamientos administrados por vía oral con ayuda de una sonda oro gástrica, inyectar a los animales de experimentación en la región subplantar por vía SC de las patas traseras derechas con 0,1mL de albúmina 1%, inmediatamente después de la inyección, medir el volumen de la pata derecha y repetir la medida a cada

hora hasta completar las 6 horas. Para esto sumergir las patas traseras hasta el maléolo lateral en un pletismómetro.

$$\% \text{ Inflamación} = (V_{t_x} - V_{t_0}) \times 100/V_{t_0}$$

Donde V_{t_x} es el volumen de la pata inflamada a un tiempo x y V_{t_0} es el volumen normal de la pata.

IV. RESULTADOS

4.1.0. Cortes histológicos de *Ricinus communis* L. “higuerilla”

4.1.1. Tallo

En vista transversal se aprecia una estructura secundaria de tallo en transición, con presencia de epidermis uniestratificada, corteza primaria con parénquima clorofiliano, colénquima angular y grupos aislados de fibras de esclerénquima.

Cilindro vascular con floema secundario, cambium vascular y xilema secundario.

Zona medular con parénquima incoloro, y drusas de oxalato de calcio.

En sección longitudinal se aprecia amplios vasos de xilema de tipo reticulado, vasos espiralados, helicoidal y anillados.

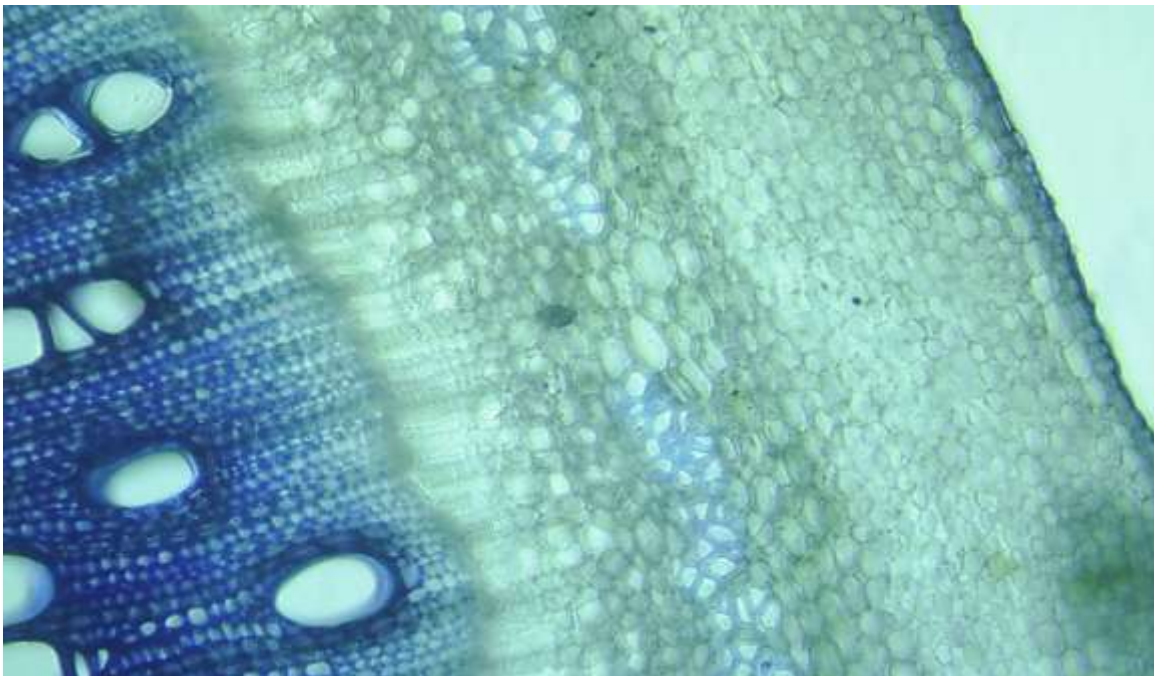


Figura N° 3. Sección transversal del tallo mostrando xilema secundario y fibras de esclerénquima x100 aumento

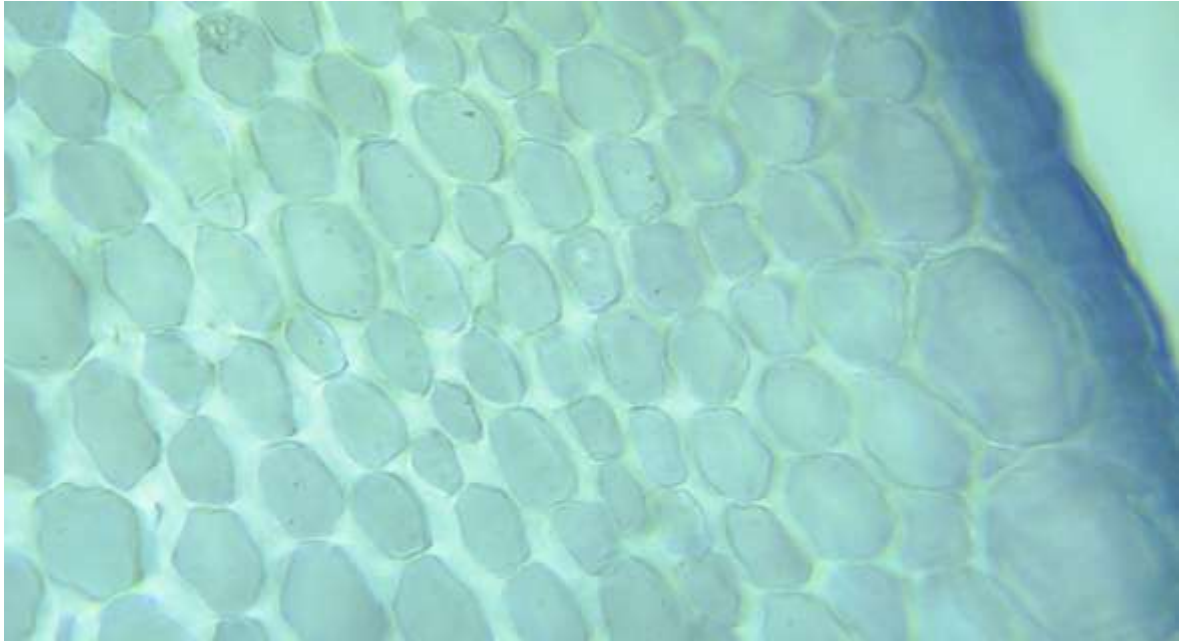


Figura N° 4. Sección transversal del tallo mostrando el colénquima angular x 400 aumento

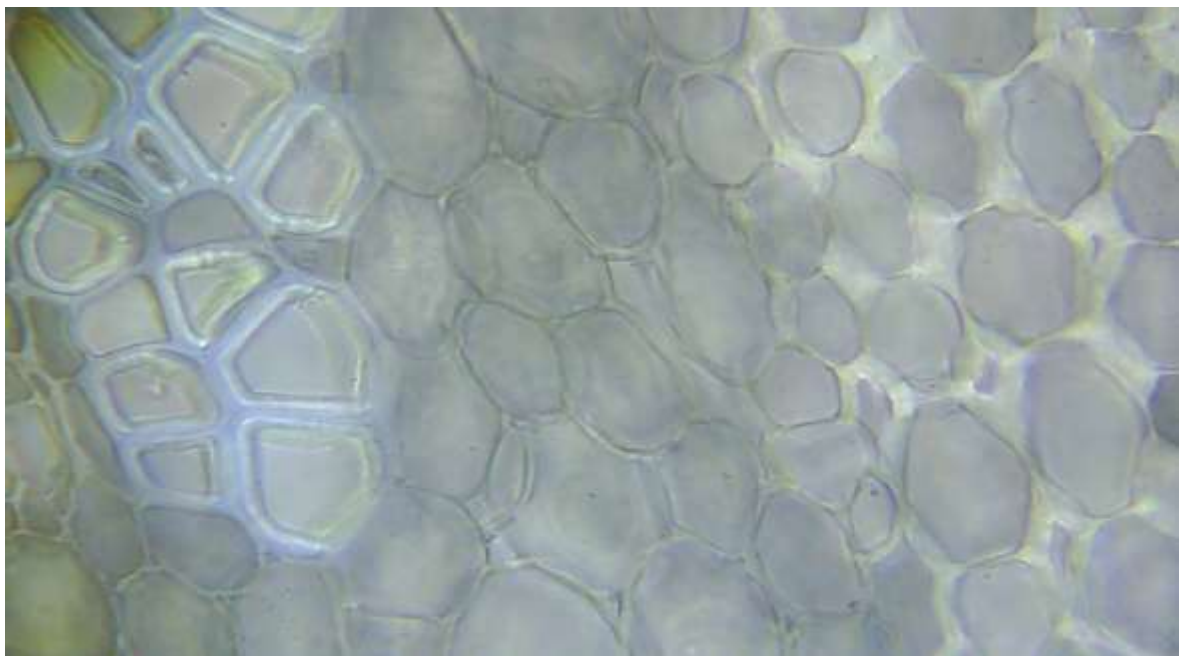


Figura N °5. Sección transversal del tallo mostrando colénquima y fibras corticales x 400 aumento

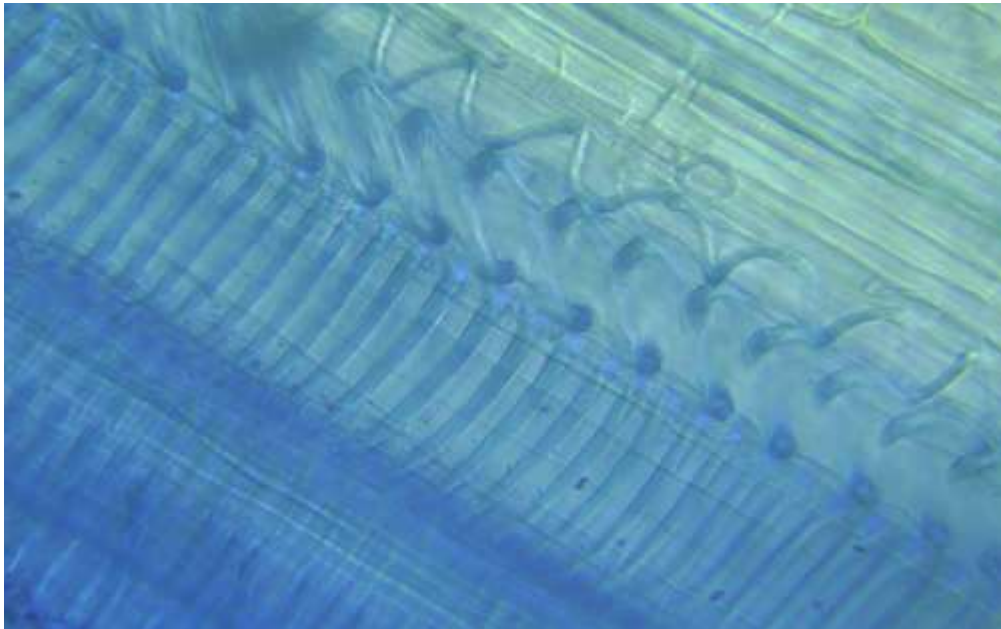


Figura N° 6. Sección transversal del tallo mostrando los vasos del xilema x 400 aumento

4.1.2. Raíz

En vista transversal se aprecia una estructura secundaria de raíz de dicotiledónea, con una delgada capa de peridermis, corteza secundaria con presencia de abundantes paquetes de fibras esclerenquimáticas, y drusas de oxalato de calcio. Cilindro vascular con floema secundario y cambium vascular y un amplio desarrollo del xilema secundario y radios medulares simples. Xilema primario en la zona medular.

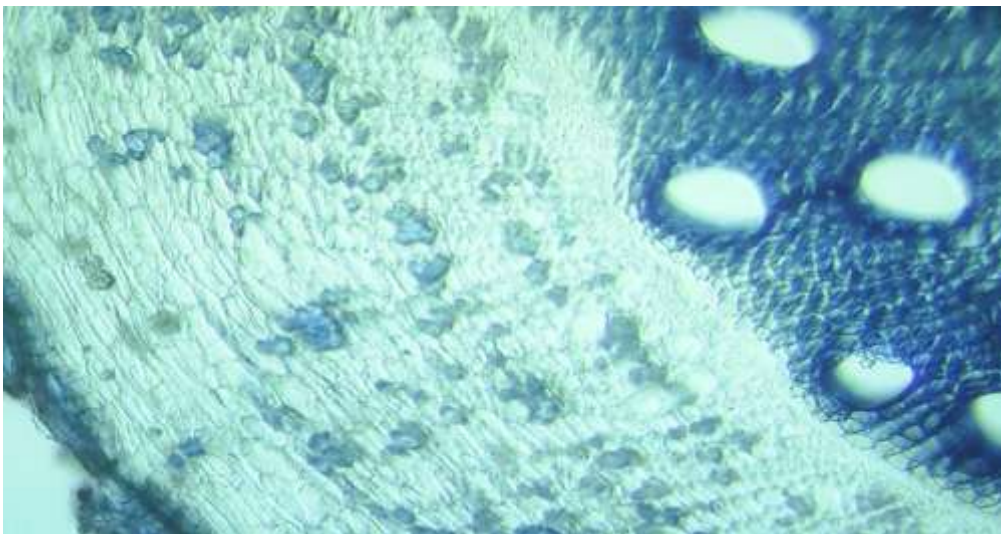


Figura N° 7. Sección transversal de la raíz mostrando la zona cortical y fibras de esclerénquima x 100 aumento

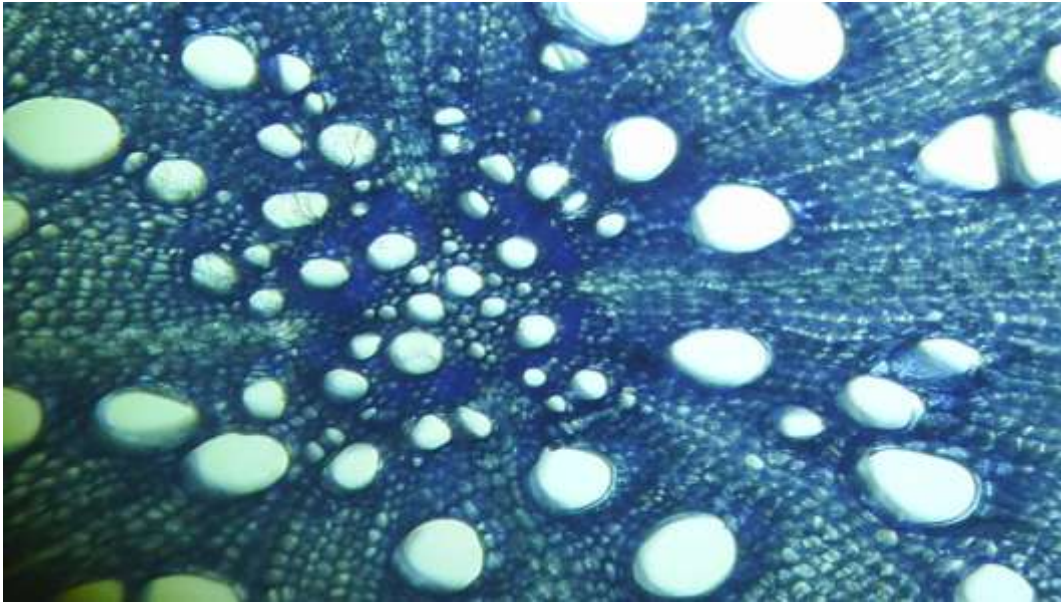


Figura N° 8. Estructura secundaria de raíz x 100 aumento

4.1.3. Hoja

Estructura de hoja bifacial de dicotiledónea, con una capa de células, parénquima en palizada y un amplio parénquima lagunar. Capa epidérmica uniestratificada y presencia abundante de drusas de oxalato de calcio hacia la nervadura central de la hoja.

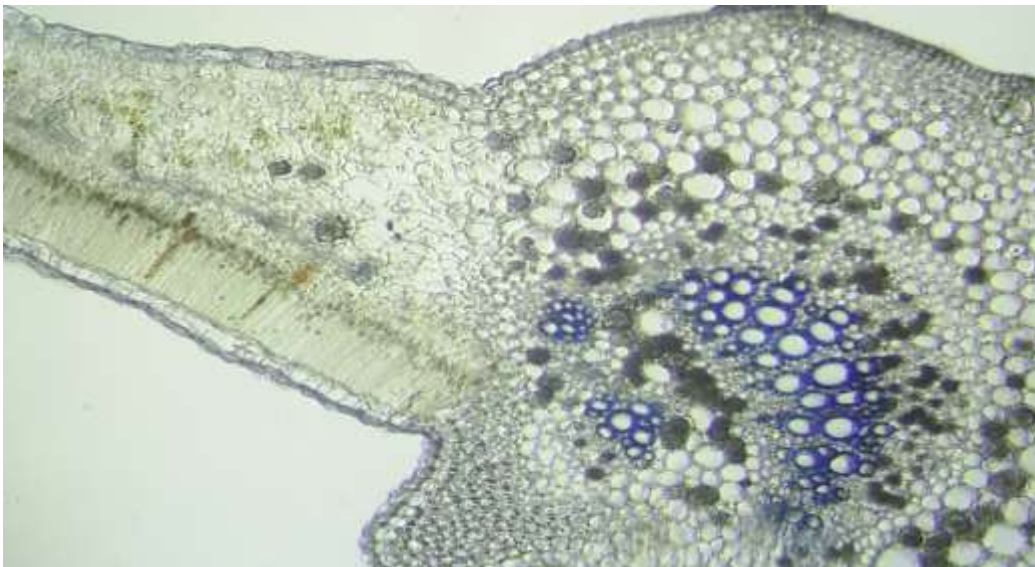


Figura N° 9. Estructura bifacial de hoja x 100 aumento.

4.2.0. Del estudio fitoquímico

4.2.1. Prueba de solubilidad

En la Tabla N° 2 y Figura N° 10. Se observa que el extracto etanólico de hoja de *Ricinus communis* L. “higuerilla” es soluble en metanol, medianamente soluble en agua destilada, etanol y acetato de etilo e insoluble en butanol, cloroformo, benceno, acetona, éter de petróleo y hexano.

Tabla N° 2: Prueba de solubilidad *Ricinus communis* L. “higuerilla”
(30 mg extracto etanólico de hojas/1mL de MeOH)

Solvente	Solubilidad
Agua destilada	+ -
Etanol	+ -
Metanol	+ +
Butanol	-
Acetato de etilo	+ -
Cloroformo	-
n-Hexano	-
Éter etílico	-
Acetona	-
Benceno	-
Éter de petróleo	-

Legenda: (-) Insoluble, (+ -) Medianamente soluble,
(+ +) Soluble.



Figura N° 10. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de hojas *Ricinus communis* L. “higuerilla”.

1. agua destilada
2. etanol
3. metanol
4. butanol
5. acetato de etilo
6. cloroformo
7. hexano
8. éter etílico
9. acetona
10. benceno
11. éter de petróleo

4.2.2. Marcha fitoquímica

En la Tabla N ° 3 y Figura N° 11 se evidencia que el extracto etanólico de hojas de *Ricinus communis* L. “higuerilla” presenta en mayor concentración flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, carbohidratos, azúcares reductores, aminoácidos, esteroides y en menor concentración alcaloides.

Tabla N° 3: Marcha fitoquímica *Ricinus communis* L. “higuerilla” (30 mg extracto etanólico de hojas/1mL de MeOH).

Reactivo	Metabolitos primarios y secundarios	Resultado
Tricloruro de aluminio	Flavonoides	+ + +
Tricloruro férrico 1%	Compuestos fenólicos	+ + +
Shinoda	Flavonoides	+ + +
Gelatina-sal 1%	Taninos	+ + +
Dragendorff	Alcaloides	+ + +
Mayer	Alcaloides	+ +
Popoff	Alcaloides	+ +
Wagner	Alcaloides	+ +
Molish	Carbohidratos	+ + +
Ninhidrina 1 %	Grupo amino libre	+ + +
Fehling A,B	Azúcares reductores	+ + +
Liebermann – Burchard	Esteroides	+ + +

Leyenda: (+ +) Moderado, (+ + +) Abundante

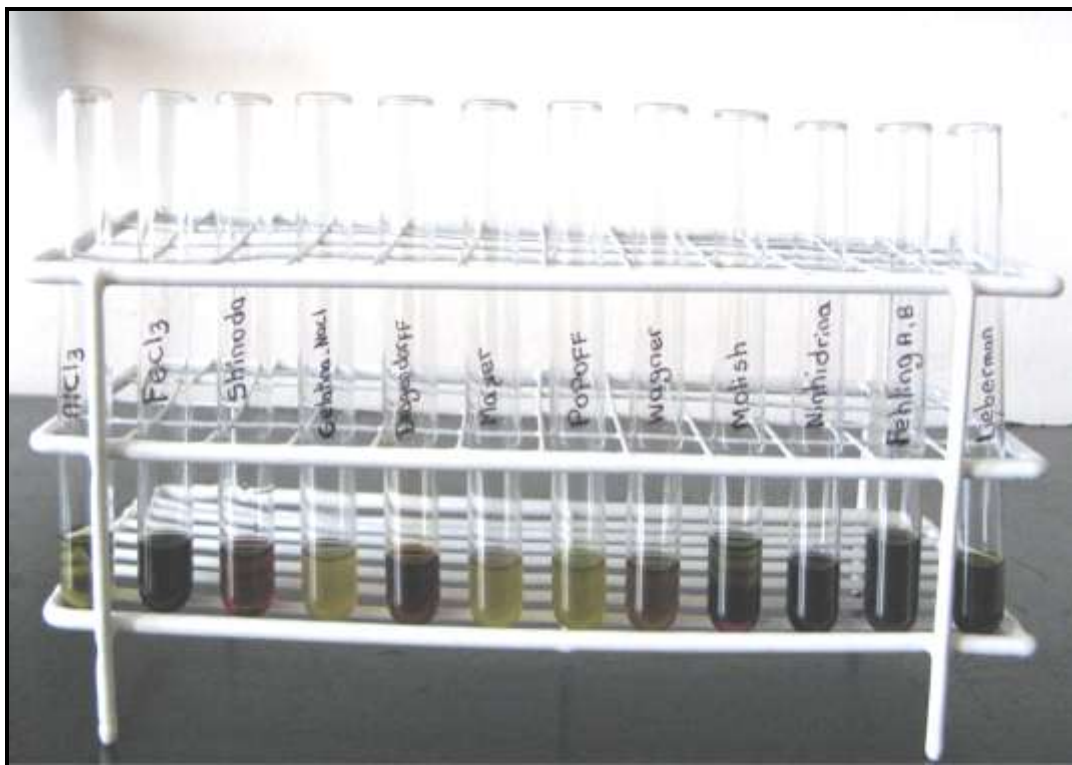


Figura N°11. Marcha fitoquímica del extracto etanólico *Ricinus communis* L. “Higuerilla”.

4. 2.3. Cromatografía en capa fina y en escala preparativa

Se realizó la cromatografía en capa fina en cromatofolios de 7 x 2,5cm, empleando el siguiente sistema de solvente: EtOAc – MeOH – H₂O (80:3:3) v/v, observándose cuatro manchas a luz visible, a luz UV 365 nm se observó manchas fluorescentes de color amarillo y púrpura, luego se realizó la cromatografía en escala preparativa, estas placas cromatográficas fueron reveladas con los reactivos: FeCl₃ (sol. 1%) observándose manchas negras y AlCl₃ (sol. 1%) observándose manchas amarillas tal como se muestra en la Figura N° 13.

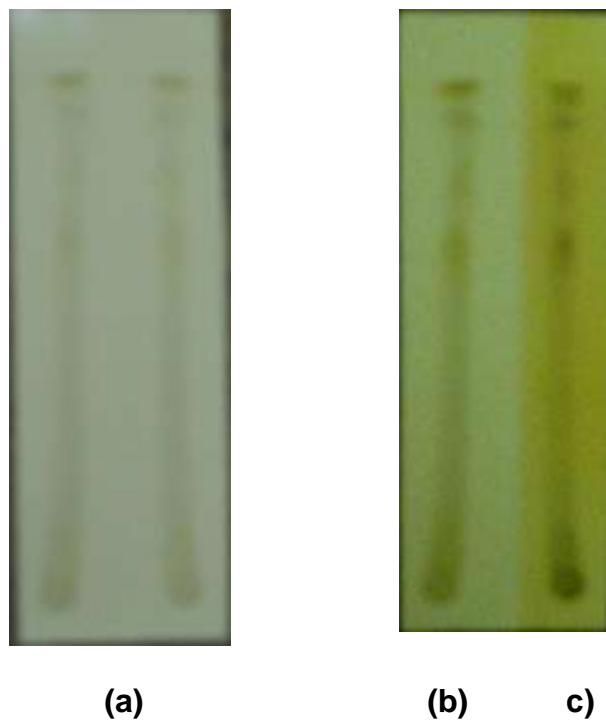


Figura N° 12. Cromatograma en capa fina del extracto etanólico de *Ricinus communis* L. “higuerilla”, sistema estacionario: silicagel GF₂₅₄, sistema de solventes: EtOAc – MeOH – H₂O (80:3:3) v/v, a la luz visible (a), revelador: sol. AlCl₃ 1% (b) y sol. FeCl₃ 1% (c).

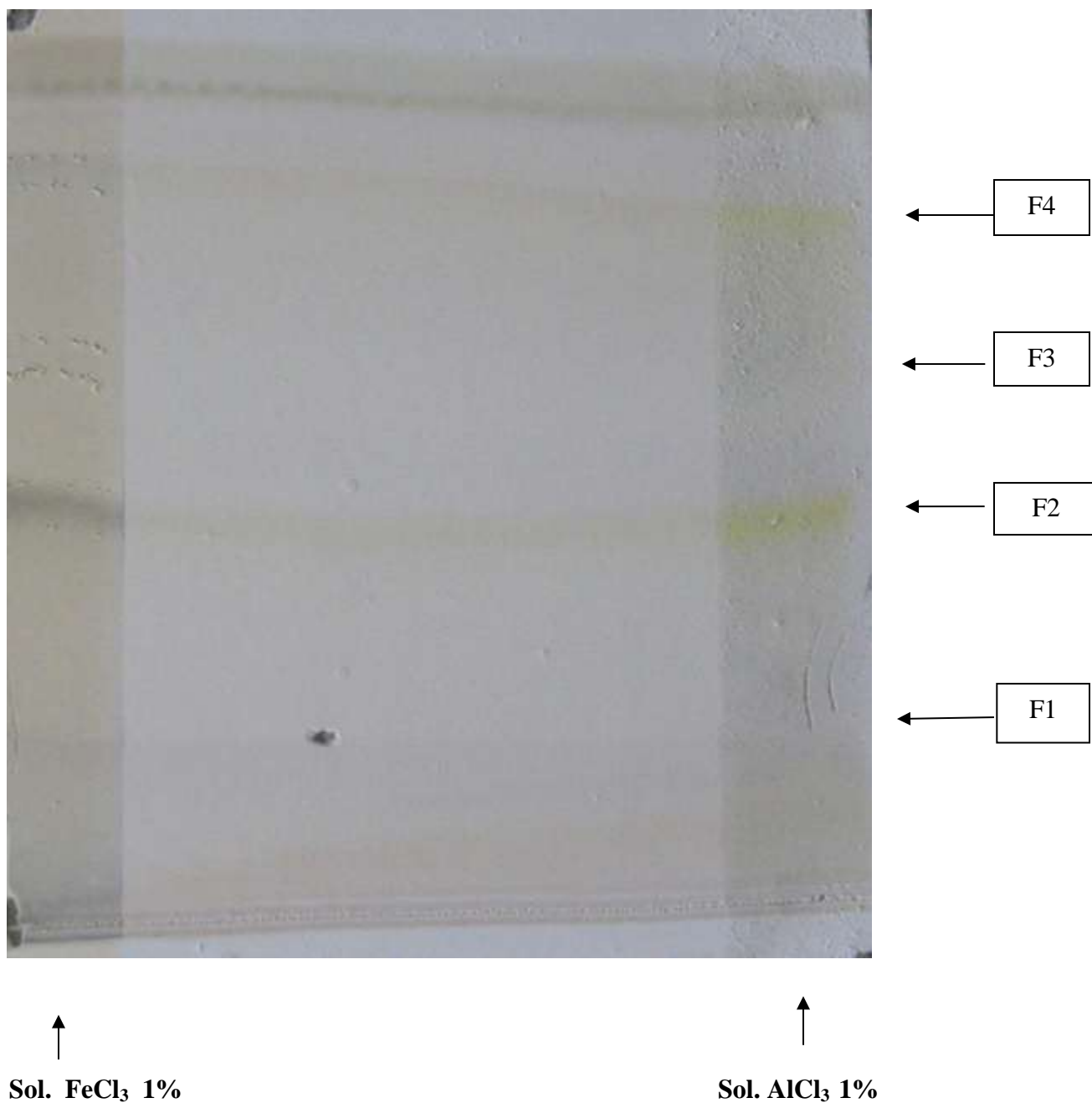
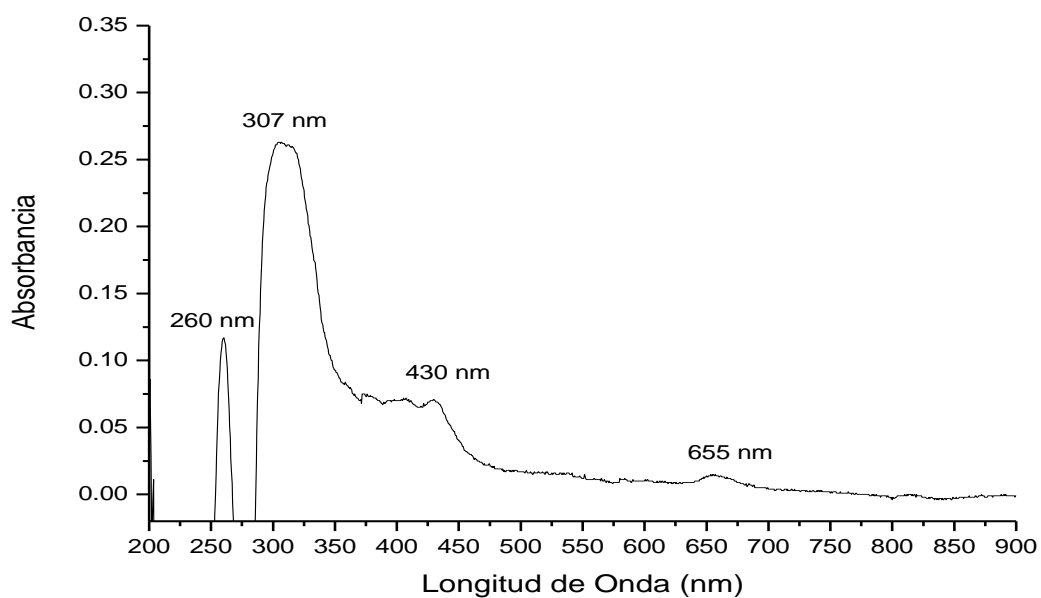


Figura N° 13. Cromatograma en escala preparativa del extracto etanólico de *Ricinus communis* L. “higuerilla”, sistema estacionario: silicagel GF₂₅₄ sistema de solventes: EtOAc – MeOH – H₂O (15:3:2) v/v, revelador: sol. AlCl₃ 1% y sol. FeCl₃ 1%.

4.2.4. Espectro UV/ Visible

El espectro UV – visible de un flavonoide se relaciona con su estructura de la siguiente manera: Banda I: 300 – 400 nm y Banda II: 240 – 285 nm. Como se demuestra en las Figuras N° 14 y 15



F2

Figura N° 14. Lectura en el espectro UV visible de la F2 Máxima λ^{MeOH} = 260 (0,130), 307 (0,28), 430(0,08), 655(0,03) nm.

4.2.5. Espectro infrarrojo

Luego de realizar el análisis de espectrofotometría UV –visible de la F2 y F4 se procedió hacer la lectura en el espectrofotómetro infrarrojo – Back Modelo 500. En las 2 fracciones analizadas se usó acetato de etilo, metanol y agua destilada para su purificación.

F2

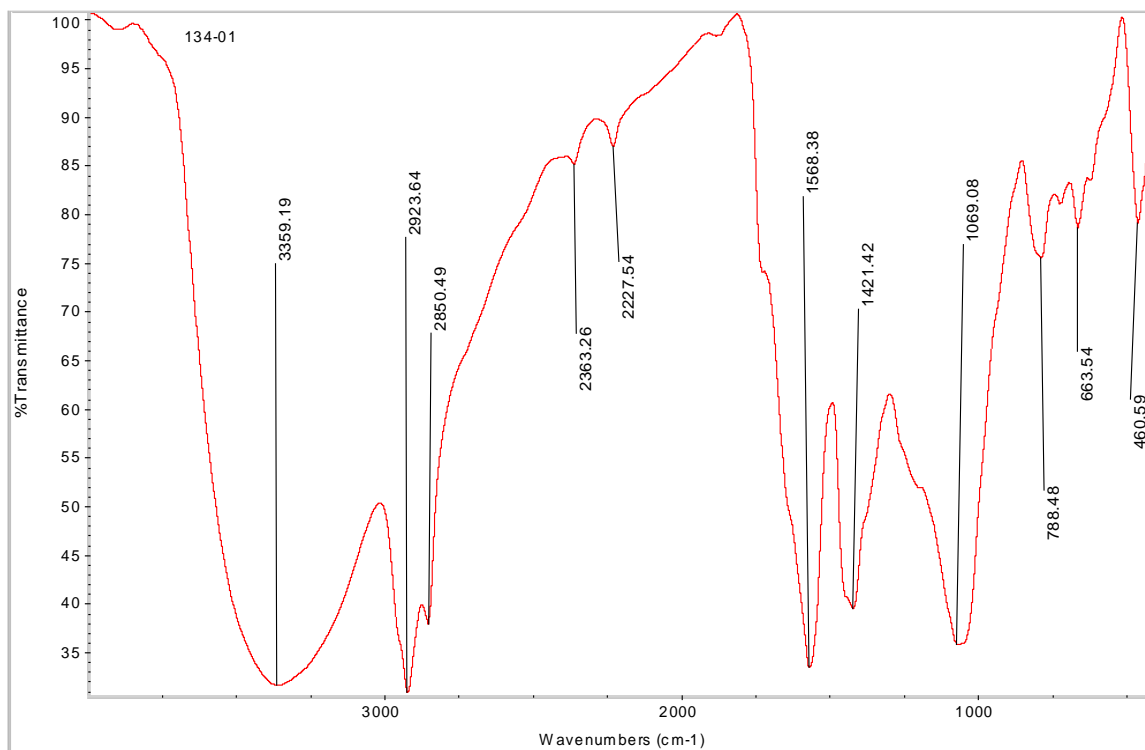


Figura N° 16. Lectura en el espectro infrarrojo de la F2

F4

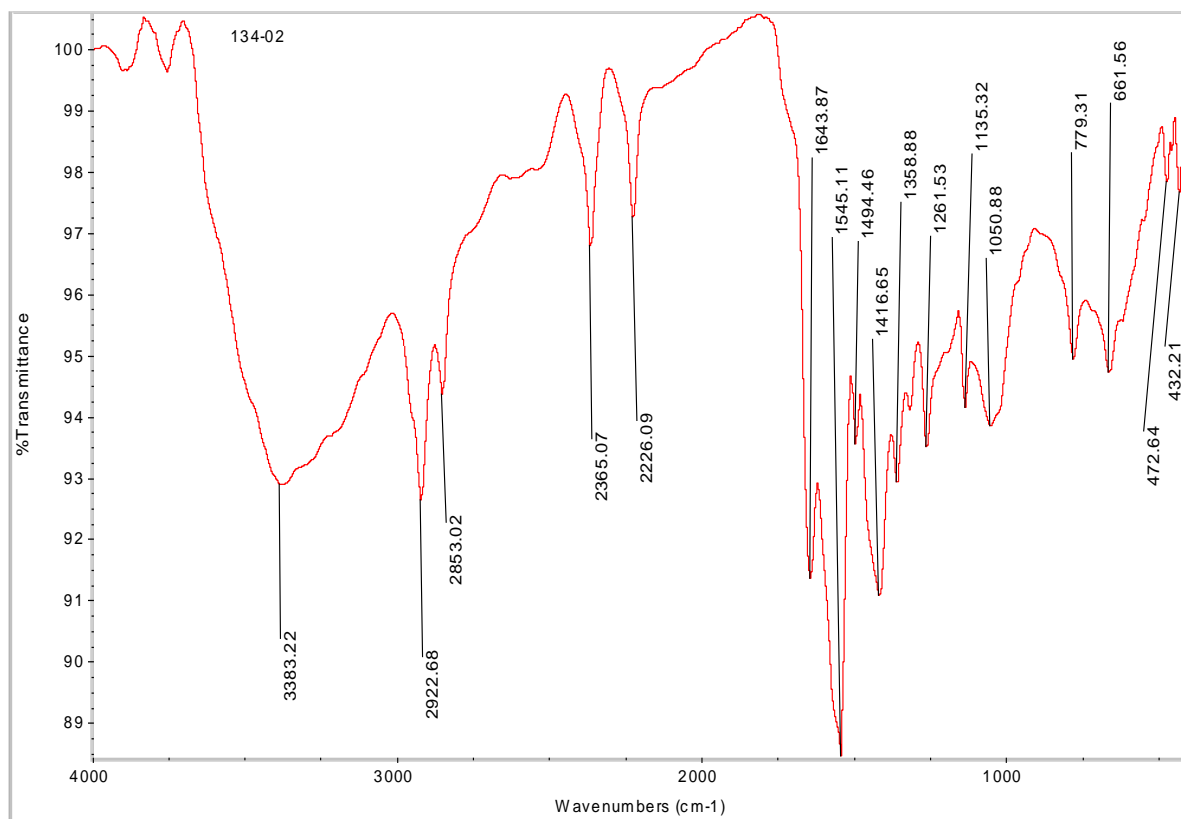


Figura N° 17. Lectura en el espectro infrarrojo de la F4

Desplazamiento batocrómico F2

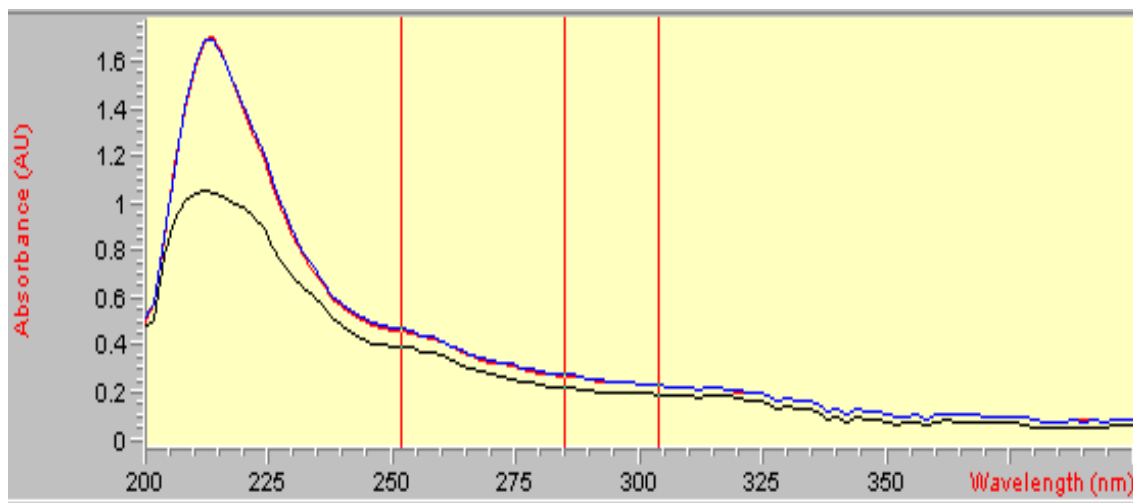


Figura N° 18. F2 metanol + metóxido de sodio

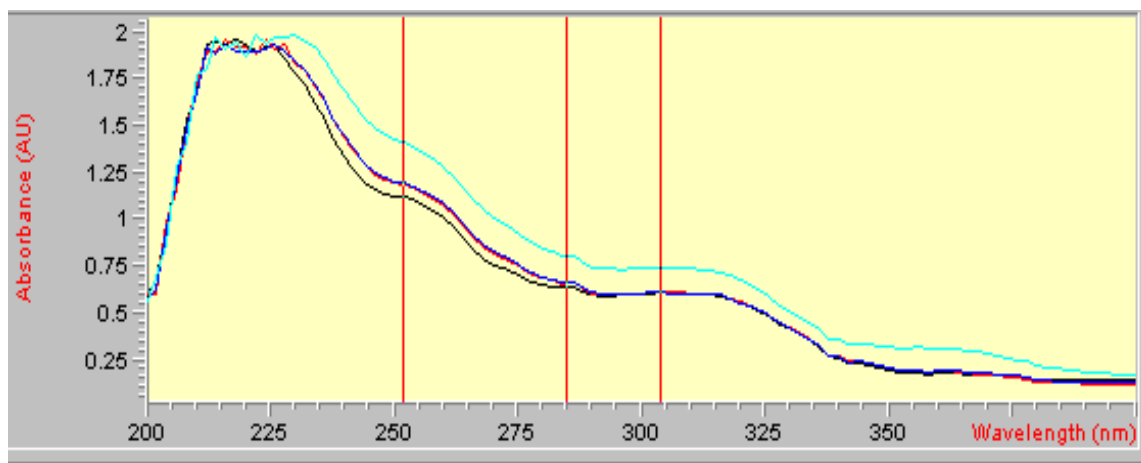


Figura N° 19. F2 metanol +cloruro de aluminio + ácido clorhídrico

Metanol	254	315
Metóxido de sodio	254	315
Cloruro de aluminio	254	315
Ácido clorhídrico	254	315

4.3.0. DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA:

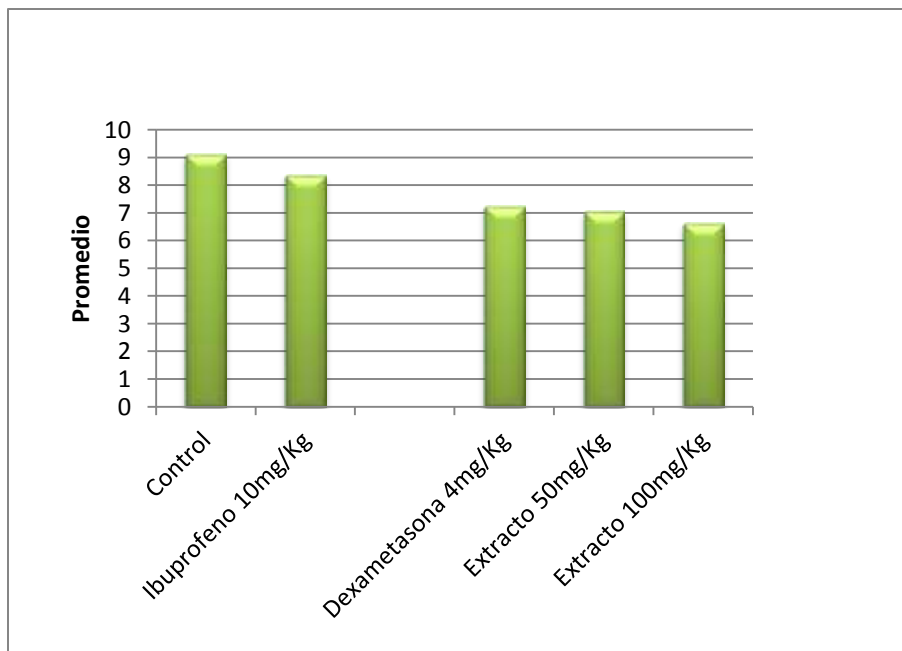


Figura. N° 24. Efecto Antiinflamatorio de *Ricinus communis* L. "higuerilla"

Tabla N° 6: Porcentaje de eficacia antiinflamatoria del extracto etanólico de *Ricinus communis* L. "higuerilla".

N° de rata por grupo	Tratamiento	% de eficacia antiinflamatoria
08	Control	0%
08	Ibuprofeno 10 mg/kg	7%
08	Dexametasona 4 mg/kg	20%
08	Extracto etanólico 50 mg/kg	20%
08	Extracto etanólico 100 mg/kg	27%

V.-DISCUSIÓN

La prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Ricinus communis* L. “higuerilla” se muestra en la tabla N° 2 y fig. N° 10. Se observa su solubilidad en metanol, de donde se deduce que los componentes químicos mayoritarios son de estructura y naturaleza polar.⁵

El “screening” fitoquímico, llamado también marcha fitoquímica, permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos de la planta¹⁶, en la tabla N° 3 y Fig. N° 11 se muestra los resultados de la marcha fitoquímica de la especie vegetal, *Ricinus communis* L. “higuerilla”; flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, alcaloides, y esteroides^{6,8,9}.

Mediante el análisis cromatográfico en capa fina, teniendo en cuenta la polaridad de flavonoides se obtuvo mejores resultados con el sistema de solventes: ETOAc-MeOH-H₂O (80:3:3), la detección de flavonoides en cromatografía en capa fina y cromatografía en escala preparativa (Fig. N°13), se debe al color de la fluorescencia que desarrollan a la luz UV, que se intensifican o cambian de color luego de la exposición a vapores de amoníaco⁵. Se realizó la cromatografía en escala preparativa, usando como sistemas de solventes ETOAc-MeOH-H₂O (15:3:2), se observó 4 manchas, se analizaron dos fracciones, que se revelaron con sol. AlCl₃ 1% y sol. FeCl₃ 1 %, en presencia de amoníaco; el color amarillo observado, indicaría la presencia de flavonas y/o flavonoles^{5, 18}.

Para la elucidación estructural del extracto alcohólico de *Ricinus communis* L. “higuerilla” se realizó el análisis espectroscópico, UV/ visible e IR (Fig. N°:14,15 y 16 y 17 tablas 4 y 5), se realizó el desplazamiento batocrómico (Fig. N°18, 19, 20, 21) del referido análisis se obtuvieron las posibles estructuras químicas: 4'-metoxiflavona y el 7-metoxiflavona (Figuras N°: 22 y 23)

En la tabla N° 7 (Anexo N°4) la evaluación de la toxicidad aguda por vía intragástrica del extracto hidroalcohólico de hojas de *Ricinus communis* L. “higuerilla”, no se presentó mortalidad a las dosis de 2 000 mg/kg, que se considera límite para los estudios de toxicidad aguda oral. El extracto hidroalcohólico de hojas de *Ricinus communis* L. “higuerilla”, se considera no

tóxica ya que no presenta una mortalidad mayor a la dosis ensayada entrando en el rango de no clasificado²³, tabla N° 1.

El extracto hidroalcohólico de hojas de *Ricinus communis* L. “higuerilla”, presenta actividad antiinflamatoria a dosis de 50 y 100 mg del extracto.

El efecto antiinflamatorio se explicaría por la presencia de flavonoides⁶ en *Ricinus communis* L. “Higuerilla” como se muestra en la tabla N° 3, dado que los flavonoides interfieren en el metabolismo de las prostaglandinas.

La especie *Ricinus communis* L. “higuerilla”, el extracto hidroalcohólico no tiene efectos tóxicos y su actividad antiinflamatoria ha sido demostrado por los pobladores que usan este extracto en los golpes para evitar la inflamación. Los estudios preclínicos y clínicos pueden ampliar su campo de acción al uso extendido en formas farmacéuticas tales como geles o cremas.

VI. CONCLUSIONES

- 1.- El extracto hidroalcohólico de hojas de *Ricinus communis* L. “higuerilla” en las condiciones experimentales presenta actividad antiinflamatoria al administrarse por vía oral a la dosis de 50 y 100 mg /kg
- 2.-El estudio fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de *Ricinus communis* L. “higuerilla” indica la presencia de abundante cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides, seguido de carbohidratos, taninos y alcaloides.
- 3.-Del extracto hidroalcohólico *Ricinus communis* L. “higuerilla” se aislaron y purificaron 2 fracciones cuyas posibles estructuras químicas son F2: 3'-metoxiflavona y F4: la 7- metoxiflavona.
- 4.-En el estudio de seguridad con el extracto hidroalcohólico *Ricinus communis* L. “higuerilla” mostro que la dosis letal 50 (DL 50) es mayor de 2 000 mg/kg.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Silva D. H. Plantas medicinales de la Amazonía peruana 1^{ra}. Ed. Iquitos AEDES; 1995
2. Brack Egg, A. Diccionario enciclopédico de plantas medicinales del Perú. 1^{ra}. Ed. Cuzco. 1999
3. CYTED. 270 Plantas medicinales iberoamericanas Santa fe de Bogotá. 1995
4. Cabieses, F. Apuntes de medicina tradicional. Concytec. Lima 1990
5. Lock de Ugaz, O. Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio de Productos Naturales. 1^{ra}. Ed. Pontificia Universidad Católica Del Perú Fondo Editorial. Lima.1988
6. Bruneton, J. Farmacognosia. Fitoquímica y plantas Medicinales. 2^{da} Ed. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España. 2001.
7. Martínez, A. Espectroscopia Ultravioleta – Visible. Acceso disponible en:
<http://martinezalejandro.muiscas.udea.co/~ff/flavonoides2001.pdf> fecha de acceso 06/04/03
8. Rodríguez, L. Fernández del Pozo de Salamanca. Principios activos de origen natural: Flavonoides. Industria Farmacéutica, Analítica y Biotecnología. Septiembre/Octubre 1998 – año XIII número: 5 Madrid
9. Kuklinski, C. Farmacognosia Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1^{ra}. Ed. Editorial Omega Barcelona. 2000

- 10.** Martino, V. Los Flavonoides como Promisorios Agentes Preventivos y Terapéuticos. Acta Farm. Bonaerense, Buenos Aires .2000
- 11.** Randerath, K. "Cromatografía de capa fina". Enciclopedia de la Química Industrial. Tomo VIII. 2da. Ed. Editorial Urno. Bilbao. 1970
- 12.** Lederer, E.; Lederer M. Cromatografía revisión de sus principios y aplicaciones. 2da. Ed. Editorial el Ateneo. Argentina .1960
- 13.** Robbins, Stanley, Ramzi Cotran. Patología estructural y funcional. México D.F. Ed. Interamericana. 1984
- 14.** Florez, Jesús Dir. "Farmacología humana". 2da. Ed. Barcelona 2000
- 15.** Goodman y Gillman., Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9^{na}. Ed. Ediciones Mcgraw Hill Interamericana, Buenos Aires, Argentina. 1996.
- 16.** Lock Sing, O. Registro y control de calidad de recursos y productos naturales de uso en salud. Pontificia Universidad Católica Del Perú Fondo Editorial. Lima. 1999
- 17.** Miranda Martínez, M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Ciudad de la Habana. Editorial Pueblo y Educación. 2002
- 18.** Gibaja Oviedo, S. Guía para el análisis de los compuestos del carbono. 1^{ra}. Ed. Lima. 1977
- 19.** Gros E.; Pomilio A.; Seldes A. y Burton G. Introducción al estudio de los productos naturales. 1^{ra}. Ed. Buenos Aires. 1985

- 20.** Domínguez, X. A. Método de investigación fitoquímica. Editorial Limusa México D.F. 2^{da} Ed. 1979
- 21.** Robert M. Silverstein,; G. Clayton B.; Terence C. Morrill. Identificación espectrométrica de compuestos orgánicos. 1^{ra}. Ed. Editorial Dana México D.F. 1980
- 22.** Mabry T.J. Markham K.R., B.Thomas. The Systematic Identificacion of Flavonoids.Berlin 1970.
- 23.** OECD, Guideline for the Testing of Chemicals N°143 (Adopted 22.03.96) Acute Toxic Class Method.
- 24.** Betancourt Badell, J. Cuestiones Éticas en la experimentación Animal. Doc. Habana Edit. ECIMED .Cuba.1999.
- 25.** Cyted/CNPD.Programa Iberoamericano de ciencia y tecnología para o desenvolvimiento. Metodos de evaluación de la actividad farmacológica de plantas medicinales.2002.
- 26.** Cronquist, A. The evolution and classification of flowering plants. 2^a edition. New York Botanical Garden, Bronx. 1988.

VII. ANEXOS

Anexo N° 1



Figura N°26. *Ricinus communis* L. “Higuerilla”. Hojas palmeadas, se observa el fruto globuloso

Anexo N° 2



Figura N°27.Recoleccion de la especie *Ricinus communis* L. “Higuerilla”.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

MUSEO DE HISTORIA NATURAL



Anexo N° 3

CONSTANCIA N° 8 - USM-2008

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa), recibida del Sr. JUAN ROBERTO PERÉZ LEÓN CAMBORDA, ha sido estudiada y clasificada como: *Ricinus communis* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ROSIDAE

ORDEN: EUPHORBIALES

FAMILIA: EUPHORBIACEAE

GENERO: *Ricinus*

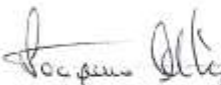
ESPECIE: *Ricinus communis* L.

Nombre vulgar: "Higuerilla"

Determinada por: Mg. María Isabel La Torre A.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 06 de Febrero de 2008


Mg. Joaquina Albán C.
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS



Anexo N° 4

Tabla N° 7. Diseño experimental para toxicidad aguda en ratones al administrar por vía oral el extracto hidroalcohólico de *Ricinus communis* L. “higuerilla”

N°	Tratamiento	n	Dosis	Muertos	Vivos
1	machos	3	25 mg/kg	0	3
2	hembras	3	25 mg/kg	0	3
3	machos	3	200 mg/kg	0	3
4	hembras	3	200 mg/kg	0	3
5	machos	3	2 000 mg/kg	0	3
6	hembras	3	2 000 mg/kg	0	3

Aun a los catorce días de observación los animales estuvieron en aparente buen estado general.

Anexo N° 5

Tabla N° 8.

			CONTROL				
	basal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas
CA1	1.2	1.2	1.2	1.2	1	1	1
CA2	1.3	1.3	1.1	1.1	1.1	1	1
CA3	1.3	1.3	1.2	1	1	1	1
CA4	1.4	1.3	1.2	1.2	1.1	1	1
CA5	1.3	1.3	1.2	1.2	1.2	1.1	1
CA6	1.3	2.2	1.3	1.2	1.2	1.1	1
CA7	1.3	2.1	1.3	1.1	1.1	1	1
CA8	1.3	1.3	1.1	1.1	1.1	1	1
TOTAL	10.4	12	9.6	9.1	8.8	8.2	8

$$\Sigma \text{ Control} = 55,7/6 = 9,28$$

$$9,28/6 = 1,5$$

$$\% \text{ inflamación} = 0\%$$

Tabla N° 9.

		IBUPROFENO AL 10mg/kg					
	basal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas
CA1	1.2	1.3	1.2	1.1	1	0.9	0.7
CA2	1.3	1.4	1.3	1.2	1.1	0.6	0.8
CA3	1.1	1.2	1.2	1.1	1.1	0.9	0.7
CA4	1.2	1.2	1.3	1.3	1.2	1	0.8
CA5	1	1.1	1.2	1.2	1.2	0.8	0.6
CA6	1.2	1.3	1.3	1.2	1.1	0.8	0.7
CA7	1.1	1.2	1.2	1.1	1.1	0.7	0.5
CA8	1.2	1.3	1.2	1.2	1.1	0.7	0.5
TOTAL	9.3	10	9.9	9.4	8.9	6.4	5.3

$$\Sigma \text{Ibuprofeno } 10 \text{ mg/kg} = 50,1/6 = 8,35$$

$$8,35/6 = 1,4$$

$$\% \text{ inflamación} = 1,5 - 1,4/1,5 \times 100 = 7 \%$$

Tabla N° 10.

		DEXAMETASONA 4mg/kg					
	basal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas
CA1	1.2	1.3	1.2	1	0.8	0.7	0.6
CA2	1.1	1.2	1	1	0.9	0.8	0.7
CA3	1	1.4	1.2	1	0.9	0.8	0.6
CA4	1	1.4	1	0.9	0.8	0.7	0.5
CA5	1	1.4	1.2	0.9	0.8	0.7	0.5
CA6	1.1	1.2	1.1	1	0.9	0.8	0.7
CA7	1.1	1.4	1	0.9	0.8	0.7	0.6
CA8	1.1	1.4	1	0.9	0.8	0.8	0.6
TOTAL	8.6	10.7	8.7	7.6	6.7	6	4.8

$$\Sigma \text{Dexametasona } 4 \text{ mg/kg} = 45,5/6 = 7,42$$

$$7,41 / 6 = 1,2$$

$$\% \text{ inflamación} = 1,5 - 1,2/1,5 \times 100 = 20 \%$$

Tabla N° 11

		Extracto 50mg/kg					
	basal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas
CA1	1.2	1.3	1	0.8	0.8	0.6	0.5
CA2	1.3	1.4	1.2	0.9	0.8	0.8	0.7
CA3	1.3	1.4	1.2	1	0.8	0.6	0.5
CA4	1.4	1.5	1.3	1	0.8	0.7	0.7
CA5	1.3	1.4	1.2	0.9	0.8	0.7	0.6
CA6	1.3	1.4	1	0.9	0.8	0.7	0.6
CA7	1.3	1.4	1.3	0.8	0.7	0.6	0.5
CA8	1.3	1.4	1.2	0.8	0.7	0.6	0.5
TOTAL	10.4	11.2	9.4	7.1	6.2	5.3	4.6

$$\Sigma \text{ Extracto 50 mg/kg} = 43,8/6 = 7,3$$

$$7,3 / 6 = 1,2$$

$$\% \text{ inflamación} = 1,5 - 1,2/1,5 \times 100 = 20 \%$$

Tabla N° 12

		Extracto 100mg/Kg					
	basal	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas
CA1	1	1.1	1	0.9	0.8	0.6	0.5
CA2	1	1.1	1	0.9	0.8	0.7	0.6
CA3	1	1.2	1	0.9	0.8	0.6	0.5
CA4	1.1	1.3	0.9	0.8	0.9	0.7	0.6
CA5	1.1	1.4	1	0.9	0.8	0.7	0.5
CA6	1	1.4	1	1	0.8	0.6	0.5
CA7	1	1.3	1.1	0.9	0.7	0.6	0.5
CA8	1.3	1.2	1	1	0.6	0.6	0.5
TOTAL	8.5	10	8	7.3	6.2	5.1	4.2

$$\Sigma \text{ Extracto 100 mg/kg} = 40,8/6 = 6,8$$

$$6,8 / 6 = 1,1$$

$$\% \text{ inflamación} = 1,5 - 1,1/1,5 \times 100 = 27 \%$$